Přínosy a rizika nezákysových bakterií mléčného kvašení v technologii výroby sýrů

Seminář potravinářské mikrobiologie

VŠCHT Praha, 20. 1. 2026

VYSOKÁ ŠKOLA
CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ V PRAZE
Ústav mléka, tuků a kosmetiky

Ing. Eva Musilová

kontakt: musilovc@vscht.cz

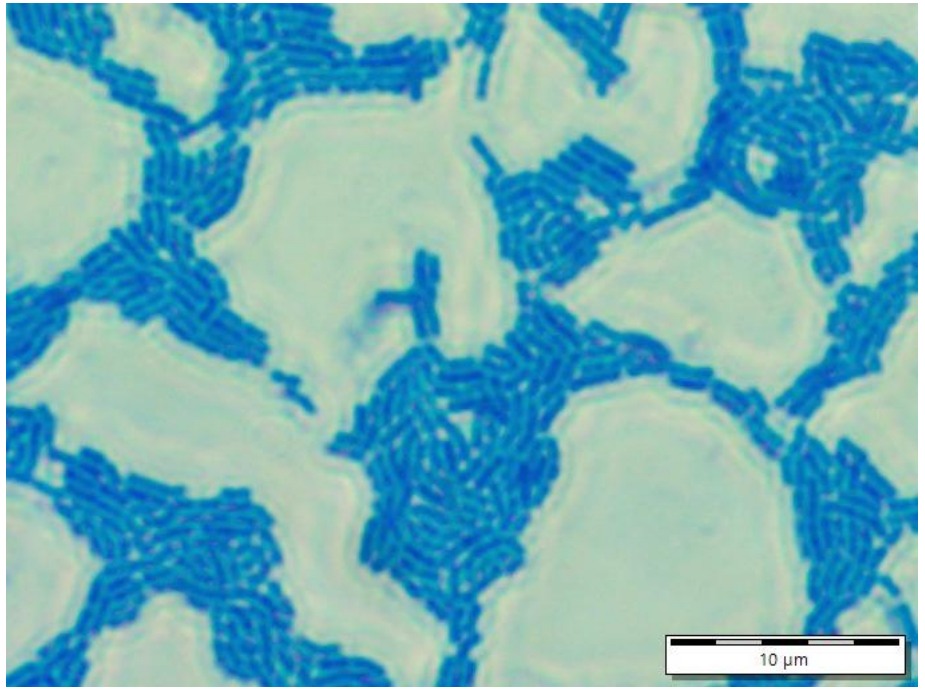
Obsah prezentace

- Bakterie mléčného kvašení v sýrech

- Přínosy
  - Technologické vlastnosti
  - Protektivní vlastnosti
  - Probiotické vlastnosti

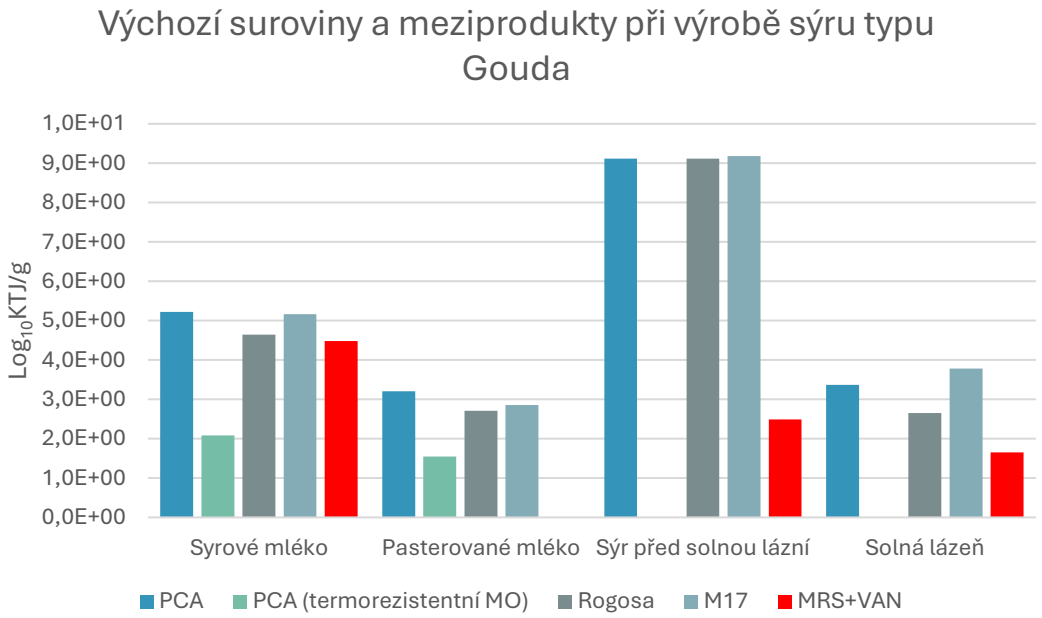
- Rizika
  - Sekundární duření sýrů
  - Produkce biogenních aminů
  - Rezervoáry genů antibiotické rezistence

- Závěr



Bakterie mléčného kvašení v sýrech

- výroba:
  - zákysové bakterie mléčného kvašení (SLAB)
    - například *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *L. lactis* subsp. *cremoris*, *Leuconostoc mesenteroides*..
  - doplňkové kultury
- během procesu zrání: **nezákysové bakterie mléčného kvašení (NSLAB)**
  - fakultativně heterofermentativní laktobacily
    - například *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lacticaseibacillus paracasei*, *Lacticaseibacillus rhamnosus, Latilactobacillus curvatus*..
  - obligátně heterofermentativní laktobacily
    - například *Levilactobacillus brevis*..
  - enterokoky
    - například *Enterococcus faecium, E. faecalis*..

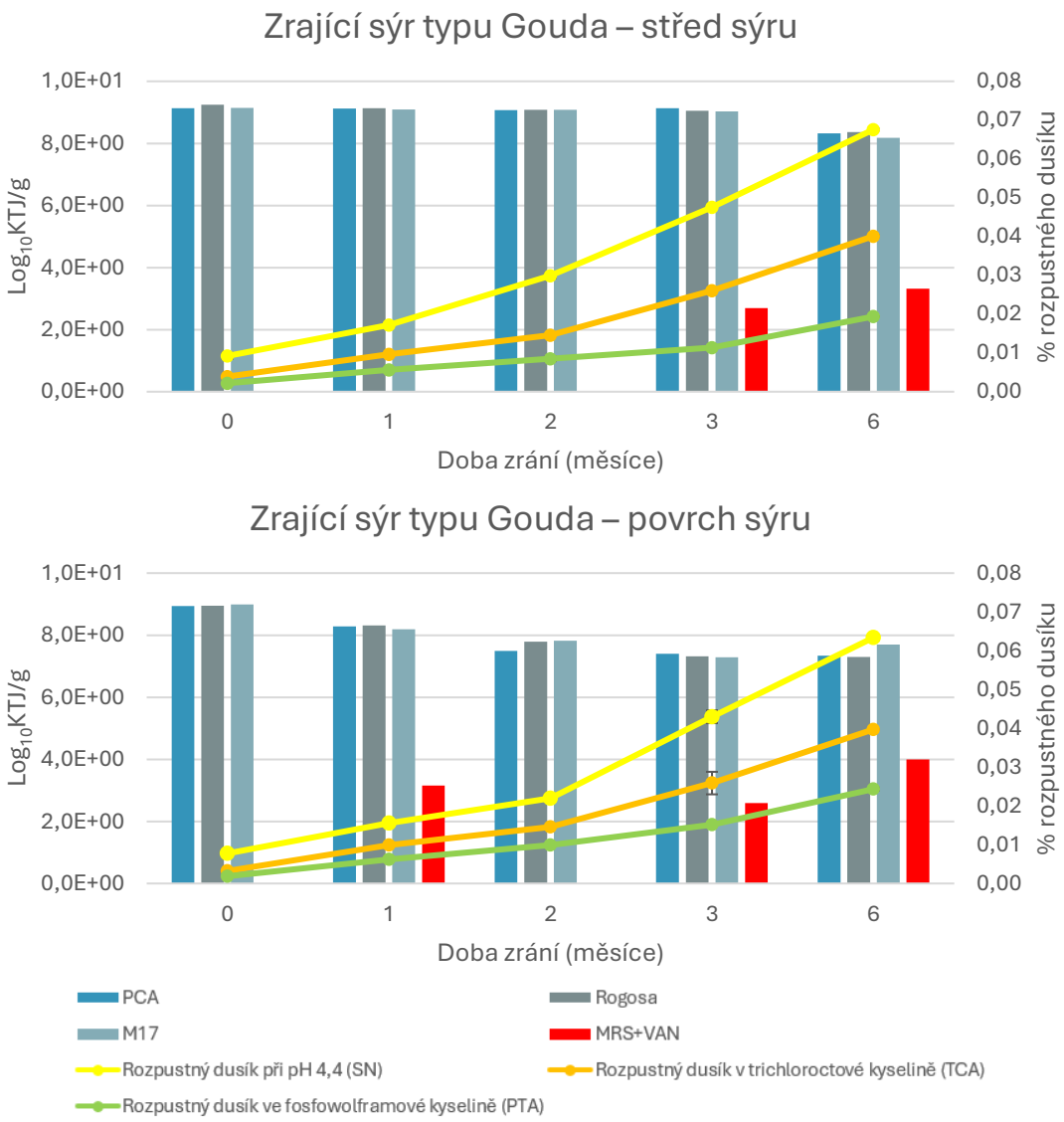


[1], [2]

Pozitivní vlastnosti NSLAB

Technologické vlastnosti

- **sekundární proteolýza** → vznik oligopeptidů a volných aminokyselin
  - = prekurzory aromatických látek
- urychlení procesu zrání ?
- postup zrání sýru měřen pomocí **stanovení frakcí dusíku** (ISO 27871:2011)
  - dusík rozpustný při pH 4,4
  - dusík rozpustný ve 12% trichloroctové kyselině
  - dusík rozpustný ve 5% fosfowolframové kyselině



[1], [3], [4]

Technologické vlastnosti

- NSLAB se podílí na vzniku **organických kyselin** a **těkavých organických látek (VOC)**
  → finální aroma a chuť sýru
  - kyselina mléčná – konzervace, senzorika (mléčná chuť)
  - kyselina octová – konzervace, aroma (především u starších sýrů)
  - aldehydy, ketody, estery..

Druh	Kmen	Koncentrace organických kyselin [mg/l]	
		Kyselina mléčná	Kyselina octová
Lactiplantibacillus plantarum	1-R-4	156,3 ± 12,3	48,1 ± 17,1
	2-ME-4	518,2 ± 50,9	552,4 ± 76,5
	3-ME-1	185,2 ± 16,6	66,0 ± 15,2
	6-R-13	470,2 ± 22,7	550,3 ± 16,5
	7-MK-8	389,2 ± 11,7	524,5 ± 42,2
	8-MT-4	507,3 ± 86,0	525,0 ± 131,1
Lacticaseibacillus paracasei	4-MV-1	1648,8 ± 30,8	997,7 ± 50,2
	5-MV-4	5470,9 ± 59,9	341,9 ± 16,9

Tvorba organických kyselin vybraných kmenů NSLAB po kultivaci 48 h v mléce.

[1], [3], [5]

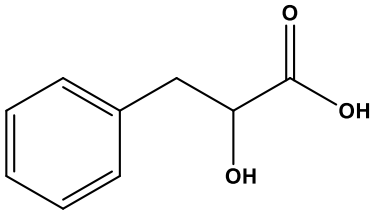
Protektivní vlastnosti

- **kompetice** - inhibice růstu a přežívání patogenní a technologicky nežádoucích mikroorganismů
  - efektivní využívání živin (možnost zpracování nejen glukosy, ale i *laktosy*)
  - rychlá kolonizace sýru (odolnost k vyššímu obsahu soli v prostředí)
  - produkce antimikrobiálních látek
  - snížení pH nejbližšího okolí pomocí produkce organických kyselin

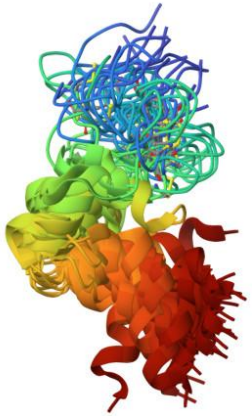


Plantaricin EF (převzato z [7])

- **antimikrobiální aktivita**
  - **bakteriociny** – proti bakteriím
    - Plantaricin EF produkován *L. plantarum*
    - Curvacin A produkován *L. curvatus*
    - *L. rhamnosus* LC 705
  - **kyselina fenylmléčná** - proti kvasinkám a plísním
    - vznik z fenylalaninu
    - využití u čerstvých sýrů



Kyselina fenylmléčná



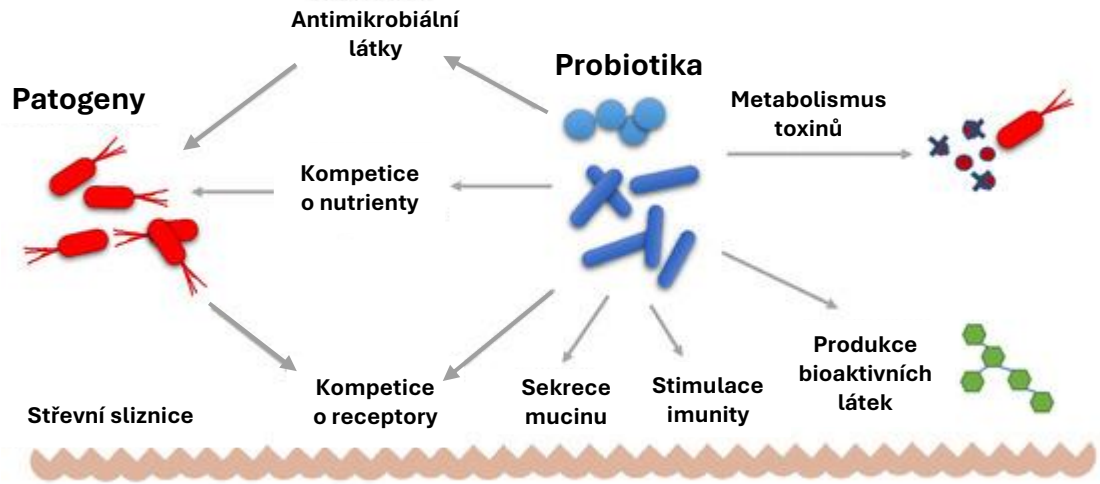
Curvacin A (převzato z [8])

- **→ zvýšení bezpečnosti a prodloužení trvanlivosti sýru**

[6], [7], [8], [9]

Probiotické vlastnosti

- **přežívání gastrointestinálních podmínek** (nízké pH, žlučové soli)
- **schopnost adheze** k intestinálnímu epitelu
- **imunomodulační účinky**
- antimikrobiální aktivita → **modulace střevní mikroflóry**
- striktně kmenově specifické!
  - Příklady probiotických kmenů:
    - *L. paracasei* NFBC 338
    - *L. plantarum* DSM 9843
    - *L. rhamnosus* GG (občasné využití v sýrařství jako doplňková kultura)



(převzato a upraveno z [10])

[6], [10]

Negativní vlastnosti NSLAB

Sekundární duření sýrů

- *heterofermentativní* laktobacily
  - fermentace laktosy → laktát, acetát, ethanol, **CO_2**
  - fermentace citrátů → acetát, diacetyl, acetoin, 2,3-butandiol, **CO_2**
  - dekarboxylace aminokyselin → **CO_2**

- **nežádoucí tvorba mechanických defektů** → nevhodné k prodeji → ekonomický dopad

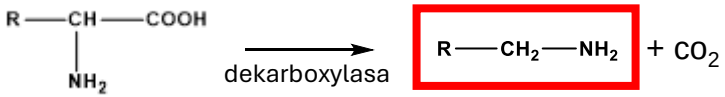


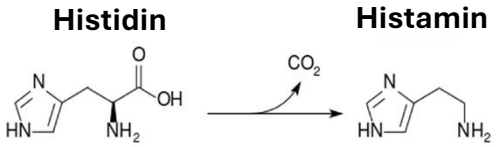
Důsledek **duření** v polotvrdém sýru (převzato z [11]).

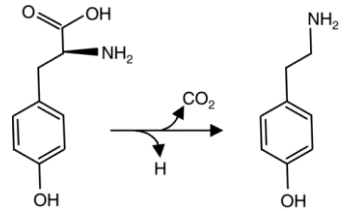
[1], [3], [11]

Tvorba biogenních aminů

- dekarboxylace aminokyselin pomocí **dekarboxylas**

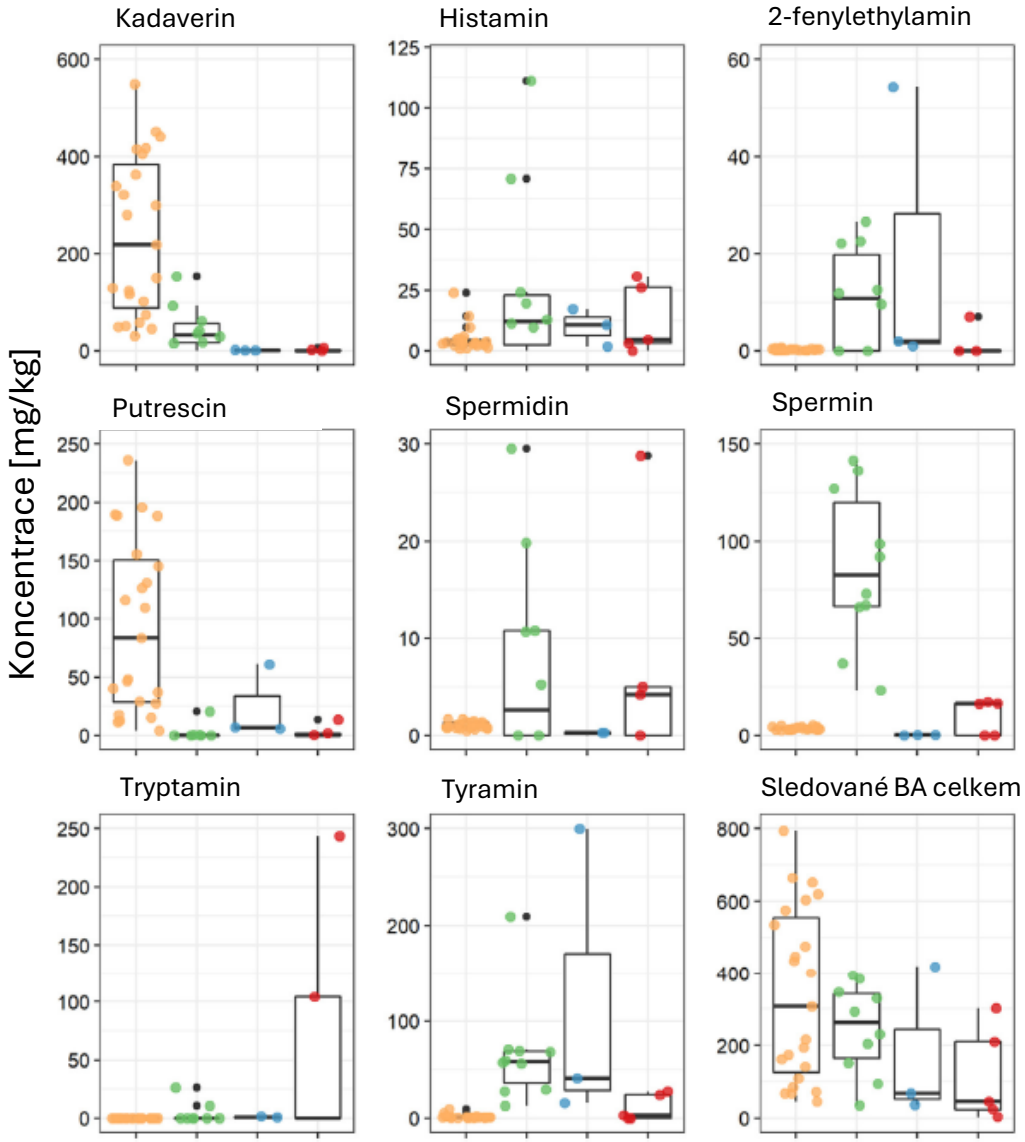






Tyrosin **Tyramin**

- v sýrech především:
  - **histamin**
  - **tyramin**
- zdraví škodlivé – legislativní limity biogenních aminů (kromě tyraminu) v sýrech ale nejsou stanoveny!
- opatření:
  - sýry z pasterovaného mléka
  - startovací kultury bez dekarboxylas
  - kompetitivní kultury proti NSLAB



Koncentrace biogenních aminů v polotvrdých sýrech (studie [12],[13],[14],[15]) (převzato a upraveno z [3]).

[1], [3], [12], [13], [14], [15]

Rezervoáry genů antibiotické rezistence

- málo prozkoumaný **možný rezervoár genů antibiotické rezistence** (kromě enterokoků) v potravním řetězci

  → možnost horizontálního přenosu genů na podmíněně patogenní bakterie

- přestože jsou bakterie mléčného kvašení obecně považovány za bezpečné, byla u vybraných kmenů patřící do skupiny NSLAB pozorována antibiotická rezistence

- pro použití v průmyslu je nutný nejdříve **fenotypový i genotypový screening** daného kmene → ověření, že je bez mobilních genetických elementů s geny antibiotické rezistence

Stanovení minimální inhibiční koncentrace antibiotika (MIC)										
Antibiotikum		**AMP**	**ERY**	**CLI**	**CMP**	**TET**	**GEN**	**VAN**	**STR**	**KAN**
Mezní hodnota [µg/ml]		**4**	**1**	**4**	**4**	**8**	**16**	**není stanoveno**	**64**	**64**
L. coryniformis	4-ME-3	0,5/S	0,5/S	0,12/S	4/S	16/R	16/S	>16	32/S	64/S
	4-MT-4	1/S	0,25/S	0,12/S	4/S	16/R	16/S	>16	32/S	128/R
L. curvatus	7-ME-5	0,5/S	0,5/S	0,12/S	8/R	32/R	128/R	>16	128/R	512/R
	7-R-3	2/S	0,5/S	0,12/S	8/R	32/R	128/R	>16	128/R	256/R
Mezní hodnota [µg/ml]		**4**	**1**	**4**	**4**	**4**	**32**	**není stanoveno**	**64**	**64**
L. paracasei	3-ME-5	1/S	0,25/S	0,12/S	8/R	2/S	16/S	>16	64/S	64/S
	3-R-9	1/S	0,25/S	0,12/S	8/R	2/S	16/S	>16	64/S	128/R
	4-MV-1	1/S	0,25/S	0,12/S	4/S	2/S	128/R	>16	64/S	128/R
Mezní hodnota [µg/ml]		**2**	**1**	**4**	**8**	**32**	**16**	**není stanoveno**	**není stanoveno**	**64**
L. plantarum	3-MT-1	1/S	1/S	8/R	8/S	16/S	128/R	>16	64/S	256/R
	8-MK-3	8/R	1/S	0,12/S	8/S	32/S	16/S	>16	128/S	256/R

Stanovené minimální inhibiční koncentrace antibiotik doporučené EFSA [17] u vybraných kmenů NSLAB.

[6], [16], [17]

Závěr

- **nezákysové bakterie mléčného kvašení jsou přirozenou a často nezbytnou složkou mikrobioty sýrů**
  - podílejí se na klíčových procesech, jako je proteolýza během zrání sýru a tvorbě organických látek utvářejících finální aroma a chuť sýru
  - zároveň jsou vhodnými kandidáty na zařazení mezi protektivní a probiotické kultury

- přes jejich **pozitivní vlastnosti** je ale nutné brát zřetel i na možné **negativní dopady** při jejich použití při výrobě sýrů
  - podílejí se na sekundárním duření sýrů, vedoucí k ekonomickým ztrátám producenta
  - jejich enzymy mohou vytvářet zdravotně rizikové biogenní aminy
  - možné rezervoáry genů antibiotické rezistence

- **propojení potravinářských technologií s mikrobiologií otevírá cestu k lepšímu porozumění role NSLAB a jejich budoucímu využití v řízené výrobě sýrů**

Děkuji za pozornost.

Poděkování

- Poděkování patří kolegyním z **Ústavu mléka, tuků a kosmetiky** a **Ústavu biochemie a mikrobiologie na VŠCHT Praha:**
  - doc. Ing. Šárce Horáčkové, CSc.
  - Ing. Sabině Purkrtové, Ph.D.
  - Ing. Blance Vrchotové, Ph.D.
  - Ing. Haně Sýkorové, Ph.D.

- Práce byla podpořena grantem Národní agentury pro zemědělský výzkum Ministerstva zemědělství ČR, grant č. QL24010251.

Reference

[1] Düsterhöft, E.-M., Engels, W., and Huppertz, T., *Gouda and related cheeses*, in *Cheese*. 2017, Elsevier. p. 865-888.

[2] Ali, A.M. et al., *Isolation and Identification of Nonstarter Lactic Acid Bacteria from Traditional Baramily Cheese*. Arab Universities Journal of Agricultural Sciences. 2021, 29(1): p. 351-363.

[3] Decadt H. et al., *Insights into the microbiota and defects of present-day Gouda cheese productions*. Current Opinion in Food Science. 2023, 52: p.101044.

[4] International Organization for Standardization and International Dairy Federation, Cheese and processed cheese—Determination of the nitrogenous fractions. ISO 27871:2011 | IDF 224:2011, 2011.

[5] Ruiz M.J. et al., *Relationship between volatile organic compounds and microorganisms isolated from raw sheep milk cheeses determined by sanger sequencing and GC–IMS*. Foods. 2023, 12(2): p.372.

[6] Grujović M.Ž. et al., *Advantages and disadvantages of non-starter lactic acid bacteria from traditional fermented foods: Potential use as starters or probiotics*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2022, 21(2): p.1537-1567.

[7] Fimland, N. et al., *Three-dimensional structure of the two peptides that constitute the two-peptide bacteriocin plantaricin EF*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Proteins and Proteomics. 2008, 1784(11): 1711–1719.

[8] Haugen, H.S. et al., *Three-dimensional structure in lipid micelles of the pediocin-like antimicrobial peptide curvacin A*. Biochemistry. 2005, 44(49): p. 16149–16157.

[9] Ponzio, A. et al., *Reuterin, phenyllactic acid, and exopolysaccharides as main antifungal molecules produced by lactic acid bacteria: A scoping review*. Foods, 2024, 13(5): p. 752.

[10] Coelho, M.C. et al., *Lactic acid bacteria in raw-milk cheeses: From starter cultures to probiotic functions*. Foods. 2022, 11(15): p: 2276.

[11] D'Amico, D.J. et al., *Microbiological quality and safety issues in cheesemaking*. Cheese and Microbes. 2014, p. 251–309.

[12] Decadt H. et al., *The rotation of primary starter culture mixtures results in batch-to-batch variations during Gouda cheese production*. Frontiers in Microbiology. 2023, 14: p.1128394.

[13] Kandasamy S. et al., *Quantitative analysis of biogenic amines in different cheese varieties obtained from the Korean domestic and retail markets*. Metabolites. 2021, 11: p.1-16.

[14] Komprda T. et al., *Content and distribution of biogenic amines in Dutch-type hard cheese*. Food Chemistry. 2007, 102: p.129-137.

[15] Mayer H.K. et al *., A new ultra-pressure liquid chromatography method for the determination of biogenic amines in cheese*. Journal of Chromatography A. 2010, 19: p. 3251-3257.

[16] Colautti, A. et al*., Antibiotic resistance and virulence factors in lactobacilli: something to carefully consider*. Food Microbiology. 2022, 103: p. 103934.

[17] EFSA, *Guidance on the characterisation of microorganisms used as feed additives or as production organisms*. EFSA Journal. 2018, 16: p. e05206.